

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-156553

⑬ Int.Cl.⁴

G 01 N 27/46
27/30

識別記号

庁内整理番号

A-7363-2G
J-7363-2G

⑭ 公開 昭和62年(1987)7月11日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 濃度測定装置

⑯ 特 願 昭60-298143

⑰ 出 願 昭60(1985)12月27日

⑱ 発 明 者 木 戸 照 雄 草津市岡本町字大谷1000番地の2 ダイキン工業株式会社
滋賀製作所内

⑲ 出 願 人 ダイキン工業株式会社 大阪市北区梅田1丁目12番39号 新阪急ビル

⑳ 代 理 人 弁理士 亀井 弘勝 外2名

明 細 書

1. 発明の名称

濃 度 測 定 装 置

2. 特許請求の範囲

1. 固定化酵素膜と該固定化酵素膜での酵素反応による生成物を測定するアンペロメトリ型電極で構成された酵素電極と、該酵素電極の出力電流値を検出する電流検出手段と、
酵素電極への電圧印加を制御する印加電圧制御手段と、
酵素電極への試料液の供給開始を検出する供給開始検出手段と、
該供給開始検出手段の検出信号に基づき前記の印加電圧制御手段に対して酵素電極への電圧印加を一定時間停止させる停止信号を出力する停止信号出力手段とからなることを特徴とする試料液中の被検物質の濃度測定装置。

2. 固定化酵素膜での酵素反応による生成物

を測定する電極が、過酸化水素電極である上記特許請求の範囲第1項記載の試料液中の被検物質の濃度測定装置。

3. 被検物質がグルコースである上記特許請求の範囲第1項または第2項記載の試料液中の被検物質の濃度測定装置。

3. 発明の詳細な説明

<産業上の利用分野>

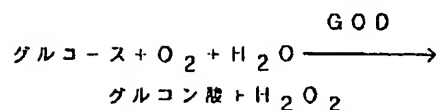
この発明は、濃度測定装置に関する。さらに詳細には、酵素電極を用い、血液等の試料液中のグルコース等の被検物質の濃度を測定する装置に関する。

<従来の技術>

従来から、試料液中の被検物質を定量する手段として、電極上に固定化酵素膜を形成した酵素電極が広く用いられている。この酵素電極は、試料中に含まれる種々の被検物質を直接、湿潤な条件下に分析できるセンサーとして非常に優れたもので、現在、医療、食品、環境計測等の広い分野で使用され、また研究されている。

このような酵素電極を用いて被検物質の濃度を定量する方法としては、固定化酵素膜での酵素反応で生成した物質を測定する方法と酵素反応で消費された物質を測定する方法が知られている。また、酵素電極に用いられる電極としては、電圧値の変化をもって測定するポテンシオメトリー型と電流値の変化をもって測定するアンペロメトリー型が知られている。アンペロメトリー型電極を使用し、固定化酵素膜での酵素反応で生成した物質を測定する酵素電極の例としては、例えば、過酸化水素電極上にグルコースオキシダーゼ酵素（以下、GODと称する）を固定化した膜（以下、固定化GOD膜と称する）を形成し、試料液中のグルコース濃度を測定するグルコースセンサー等が挙げられる。

この種の酵素電極を用いる濃度測定装置は、通常、酵素電極と酵素電極からの出力電流値を測定する電流検出手段からなり、その測定機構を、例えば、上記のグルコースセンサーを例にとりて説明すると、次の酵素反応を利用するものである。



すなわち、GODの存在下、グルコースが酵素により酸化され、グルコン酸に変化する際の過酸化水素の発生量を、過酸化水素電極で電流値に変換し、その電流値を電流検出手段で測定し、あらかじめ求められた検出線より、その値を用いてグルコース濃度を求めるものである。この種の他の酵素電極を用いる濃度測定装置も同様な機構に基づき、被検物質および酵素反応生成物のそれぞれに応じた固定化酵素膜および電極を使用して、同様にして被検物質の濃度を測定する。

<発明が解決しようとする問題点>

従来、このような酵素電極を用いた試料液中の濃度測定装置にあつては、酵素反応で生成した物質の一部しか電極で検知されておらず、また通常、試料液は、酵素電極の測定可能な濃度範囲の制限、酵素反応の最適pH等の関係から緩衝液で希釈されており、試料液中の被検物質の濃度は低いので、

電極からの出力電流は小さく、測定精度の信頼性に欠ける。特に、電極面積の小さな小型のセンサーでは、出力電流が微弱になり、測定回路の増幅器に特別の設計が必要となるので高価になる。

従って、電極からの出力電流が大きな濃度測定装置が望まれている。

<発明の目的>

この発明は、上記の問題点に鑑みなされたもので、従来からの酵素電極を使用しながら、電極からの出力電流を増大できる、試料液中の被検物質の濃度測定装置を提供することを目的とする。

<問題を解決するための手段>

上記の問題点を解決すべくなされた、この発明の濃度測定装置は、固定化酵素膜と該固定化酵素膜での酵素反応による生成物を測定するアンペロメトリー型電極とを備えた酵素電極と、該酵素電極からの出力電流値を検出する電流検出手段と、酵素電極への電圧印加を制御する電圧印加制御手段と、酵素電極への試料液の供給開始を検出する供給開始検出手段と、該供給開始検出手段の検出

信号に基づき前記の電圧印加制御手段に対して酵素電極への電圧印加を一定時間停止させる停止信号を出力する停止信号出力手段とから構成され、上記の構成に基づき、酵素電極への電圧印加を、酵素電極への試料液供給開始から一定時間停止することを特徴とするものである。

この発明において使用される酵素電極は、固定化酵素膜と該固定化酵素膜での酵素反応による生成物を測定するアンペロメトリー型電極で構成されるものであれば、特に限定されず、例えば、前記のグルコースセンサーの他に、過酸化水素電極上に、ウリカーゼ、コレステロールオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ、ビルビン酸オキシダーゼ、コリンオキシダーゼ等の酵素をそれぞれ固定化した膜が設けられた尿酸センサー、コレステロールセンサー、アルコールセンサー、乳酸センサー、アミノ酸センサー、ビルビン酸センサー、コリンセンサー等が挙げられる。

<作 用>

この発明は、上記の構成よりなり、酵素電極への電圧の印加が、試料液が供給されてから一定時間停止しており、その間、電極上での酸化、還元反応が起らないので、固定化酵素膜で生成された酵素反応生成物は消費されず電極上に蓄積されて高濃度となる。従って、酵素電極へ電圧を再印加した時の電極からの出力電流値を大きくすることができる。

前記の電極上に蓄積される酵素反応生成物量は、酵素電極への電圧印加停止時間、その他の測定条件を一定にすれば、試料液中の被検物質の濃度に比例するので、酵素電極からの出力電流を測定することにより試料液中の被検物質の濃度を求めることができる。

<実施例>

以下、図面に基づき、この発明をより詳細に説明する。

第1a図は、この発明にかかる装置の一実施例を示す概略図で、この実施例では、酵素電極(1)として、前記の過酸化水素電極上に固定化GOD膜が

なく膜内に蓄積される。

このようにして、一定時間酵素電極(1)への電圧印加を停止した後、酵素電極(1)へ電圧を再印加する。膜内の過酸化水素は高濃度となっており、電圧を再印加したときに、大きな出力電流値を得ることができる。

酵素電極(1)からの出力電流は、電流検出手段(5)に入力され、電流値が求められ、その値をあらかじめ作成された検量線と比較し、試料液(S)中の被検物質たるグルコースの濃度が算出される。

第1b図は、この発明にかかる濃度測定装置の他の実施例を示す概略図で、酵素電極(1)、フローセル(2)、停止信号出力手段(4a)、電圧印加制御手段(4b)および電流検出手段(5)は、第1a図の実施例と同様なものを使用しており、同一の部材には同一の番号を付してある。この実施例では、試料液容器(6)中の試料液(S)を吸引ポンプ(7)で吸引し、試料液(S)をフローセル(2)へ送液する。また、この例にあっては、試料液供給開始は、吸引ポンプ(7)の作動に基づいて、供給開始検出手段(3)で検知さ

形成されたグルコースセンサーが使用されている。該酵素電極(1)の検知部はフローセル(2)内に露出しており、フローセル(2)には、キャリアーとしての緩衝液および被検物質としてのグルコースを含有する試料液(S)が送液される。フローセル(2)の送液開端部に、発光素子(3a)と受光素子(3b)とからなる試料液の供給開始検出手段(3)が設けられ、フローセル(2)に緩衝液が充填された状態から、試料液(S)が注入され始めると光の透過率の変化が生ずることから、試料液の供給が開始されたことを検知する。該検出手段(3)からの出力信号は、停止信号出力手段(4a)に入力され、該信号に基づき電圧印加制御手段(4b)により酵素電極(1)への電圧印加が一定時間停止される。グルコースを含有する試料液(S)はフローセル(2)中を通過し、グルコースは酵素電極(1)の固定化GOD膜で酸化され、生成物である過酸化水素は膜内に取込まれる。この際、酵素電極(1)への電圧印加が一定時間停止されているので、電極上での酸化、還元反応は停止しており、取込まれた過酸化水素は消費されること

れ、この信号により停止信号出力手段(4a)および電圧印加制御手段(4b)が作動し、酵素電極(1)への電圧印加が停止される。以後、第1a図の実施例と同様にして測定される。

前記の供給開始検出手段(3)は、上記の実施例の手段に限定されず、被検物質の特性に応じて適宜選択でき、例えば、屈折率の変化を検知する方法、電気伝導度の変化を検知する方法等が挙げられる。

酵素電極(1)への電圧印加停止時間は、使用される酵素電極のサイズ、固定化酵素膜の透過特性、送液速度等により異なり、実験的に最適時間を求める。

次に、具体例をもって、この発明を説明する。
具体例1

前記の第1a図において、フローセルとして管径3mm、供給開始検出手段から酵素電極までの管長が5mm、酵素電極として過酸化水素電極(YSI社製、No.110187)上に固定化GOD膜(市販品)が設けられたグルコースセンサーを用いた装置を使用した。

室温にて、濃度 100mg/dl のグルコース水溶液を 150 ml/hr. の流速で送液した。酵素電極の電圧印加停止時間を試料液供給後 8 秒とし、その後、0.7V の電圧を印加した。試料液供給後の酵素電極からの出力電流を測定した。その結果を第 2 図に示す。

比較として、酵素電極への電圧印加を一時的に停止しない、従来法における酵素電極からの出力電流の測定結果も併せて示した。

具体例 2

具体例 1 と同様な装置および方法で、種々のグルコース濃度水溶液をフローセルに送液し、それぞれの濃度における酵素電極からの出力電流の最大値を調べた。その結果を第 3 図に示す。

比較として、酵素電極への電圧印加を一時的に停止しない、従来法における酵素電極からの出力電流の最大値も併せて示した。

第 2 図および第 3 図から明らかなように、この発明の濃度測定装置による酵素電極からの出力電流は、従来法による酵素電極からの出力電流に比

べ、はるかに大きく、また酵素電極の測定可能な濃度範囲も従来法に比べて広い。

< 効果 >

以上のように、この発明の濃度測定装置によれば、従来の酵素電極をそのまま使用しながら、酵素電極からの出力電流を増加でき、かつ測定可能な濃度範囲が広いという特有の効果を奏する。

4. 図面の簡単な説明

第 1a 図および第 1b 図は、それぞれ、この発明の濃度測定装置の例を示す概略図、

第 2 図は、この発明の濃度測定装置および従来の装置における、酵素電極からの出力電流を示す図、

第 3 図は、この発明の濃度測定装置および従来の装置における、種々のグルコース濃度水溶液に対する酵素電極からの出力電流の最大値を示す図である。

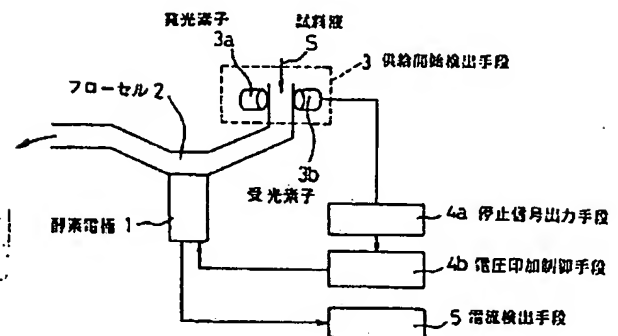
- | | |
|--------------|--------------|
| (1) …… 酵素電極 | (2) …… フローセル |
| (3a) …… 発光素子 | (3b) …… 受光素子 |

- | |
|------------------|
| (3) …… 供給開始検出手段 |
| (4a) …… 停止信号出力手段 |
| (4b) …… 電圧印加制御手段 |
| (5) …… 電流検出手段 |
| (6) …… 試料液容器 |
| (7) …… 吸引ポンプ |
| (5) …… 試料液 |

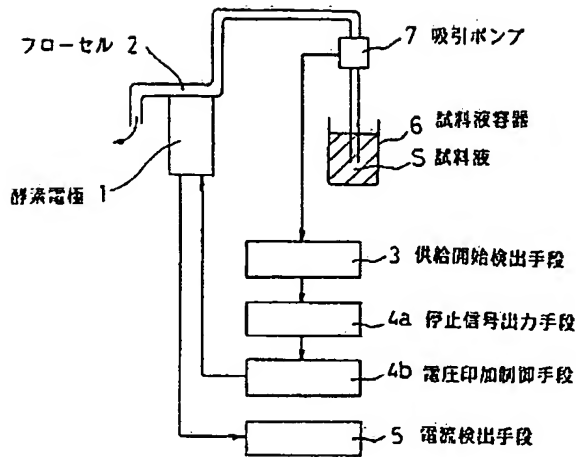
特許出願人 ダイキン工業株式会社

代理人 弁理士 堀 井 弘 勝
(ほか 2 名)

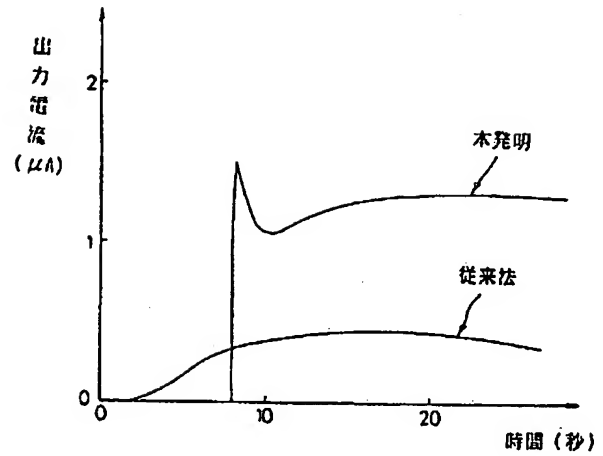
第 1a 図



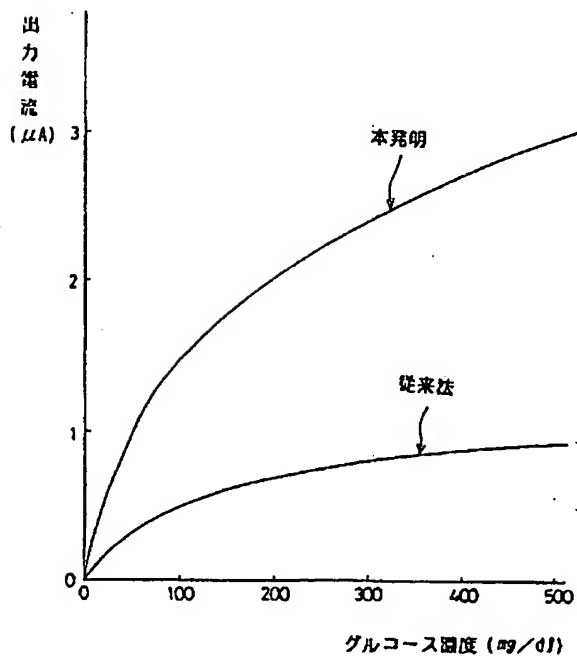
第1b図



第2図



第3図



手続補正書(自発)

昭和61年2月27日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

1. 事件の表示

昭和60年 特 許 願 第298143号

2. 発明の名称

濃度測定装置

3. 補正をする者

事件との関係

特許出願人

住 所 大阪市北区梅田1丁目12番39号 新阪急ビル
名 称 (285) ダイキン工業株式会社
代表者 山 田 隆

4. 代 理 人

住 所 大阪市東区京橋3丁目68番地
北浜ビル2号館7階 ☎ 06(943)6903
氏 名 (7515) 弁理士 加 井 弘 勝

住 所 大阪市東区京橋3丁目68番地
北浜ビル2号館7階 ☎ 06(943)6903
氏 名 (8780) 弁理士 津 川 友 上

住 所 大阪市東区京橋3丁目68番地
北浜ビル2号館7階 ☎ 06(943)6903
氏 名 (8548) 弁理士 廣 瀬 孝 美

5. 補正命令の日付(自発)

6. 補正の対象

明細書中、特許請求の範囲の欄

7. 補正の内容

- (i) 明細書中第1頁～第2頁の特許請求の範囲を別紙の通り訂正する。

2. 特許請求の範囲

1. 固定化酵素膜と該固定化酵素膜での酵素反応による生成物を測定するアンペロメトリー型電極で構成された酵素電極と、該酵素電極の出力電流値を検出する電流検出手段と、
酵素電極への電圧印加を制御する電圧印加制御手段と、
酵素電極への試料液の供給開始を検出する供給開始検出手段と、
該供給開始検出手段の検出信号に基づき前記の電圧印加制御手段に対して酵素電極への電圧印加を一定時間停止させる停止信号を出力する停止信号出力手段とからなることを特徴とする試料液中の被検物質の濃度測定装置。
2. 固定化酵素膜での酵素反応による生成物を測定する電極が、過酸化水素電極である上記特許請求の範囲第1項記載の試料液中の被検物質の濃度測定装置。

3. 被検物質がグルコースである上記特許請求の範囲第1項または第2項記載の試料液中の被検物質の濃度測定装置。

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

平 4. 7. 14 発行

昭和 60 年特許願第 298143 号 (特開昭
62-156553 号, 昭和 62 年 7 月 11 日
発行 公開特許公報 62-1566 号掲載) につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ
たので下記のとおり掲載する。 6 (1)

| Int. Cl. '5 | 識別 記号 | 庁内整理番号 |
|-----------------------|----------|--|
| G01N 27/416 27/327 | | C-6923-2J G01N 27/46 -336 P-7235-2J G01N 27/30 -353 |

平成 4. 7. 14 発行

手 続 補 正 書 (自発)

平成3年12月6日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和60年特許願第298143号

2. 発明の名称

濃 度 測 定 装 置

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 昭和62年5月20日住所変更済 (一括)

大阪市北区中崎西2丁目4番12号梅田センタービル

名 称 (285) ダイキン工業株式会社

代表者 山 田 稔

4. 代 理 人

住 所 大阪市北区天神橋1丁目7番10号

やまとやビル3階 番 06(859)8045

氏 名 (8780) 弁理士 津 川 友 士

5. 補正命令の日付 (自発)

6. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄

7. 補正の内容

別紙の通り

7. 補正の内容

(1) 明細書第12頁第2行の末尾に次の記載
を加入する。

「尚、この発明は上記の実施例に限定されるも
のではなく、例えば、フローセル(2)を用いること
なく酵素電極(1)に直接試料液を点着することが可
能であるほか、この発明の要旨を変更しない範囲
内において種々の設計変更を施すことが可能であ
る。」